

Linzer biol. Beitr.	35/1	499-514	30.6.2003
---------------------	------	---------	-----------

Morphologie und Entwicklung der akzessorischen Drüsen im Genitaltrakt der Weibchen von *Gryllus bimaculatus* DEGEER und *Gryllus assimilis* FABRICIUS (Orthoptera: Gryllidae)

R. STURM

A b s t r a c t : Morphology and development of the accessory glands in the female genital tract of *Gryllus bimaculatus* DEGEER and *Gryllus assimilis* FABRICIUS (Orthoptera: Gryllidae).

In the present study, the morphology and development of the female accessory glands in *G. bimaculatus* and *G. assimilis* is investigated in detail and compared with the respective results obtained for the accessory glands of *Teleogryllus commodus*. The paired glands are posited within the 6th and 7th abdominal segment and join the genital chamber lateral to the terminal papilla. Each gland can be subdivided into three main regions: a basal part (R1) with the orifice, a middle part (R2) including the complex system of ramifications, and an apical part (R3) with the end tubules. While shape and size of the glands differ significantly among the studied crickets, the gland morphology and ultrastructure of single gland cells is marked by great uniformity. Therefore, the epithelium surrounding the gland lumen is composed of a basal lamina, a single cell layer, and a cuticular intima forming spiny and hair-like processes. Each gland cell shows a basal region with elliptic nucleus and intracellular cisternae as well as an apical region with numerous lipid- and protein-forming compartments, cristae-type mitochondria, and microvilli coat. In analogy to *T. commodus*, the lipophilic secretion passes the intima by simple diffusion. The development of the accessory glands is characterized by a considerable increase of the gland size which is caused by a continuous enlargement of the cell dimensions, but not by mitotic cell propagation.

K e y w o r d s : Accessory gland, morphology, ultrastructure, development, cricket.

Einleitung

Den ausführlichen Studien von GILLOTT (1988) zufolge sind die akzessorischen Drüsen im Genitaltrakt verschiedener Insektenweibchen durch die Produktion spezifischer Sekrete gekennzeichnet, welche sich als essentiell für die Reproduktion der Tiere erweisen. Generell sind die Drüsen dem Ektoderm zuzuordnen und gelten als wichtiger Bestandteil des Reproduktionsapparates bei zahlreichen Vertretern der Orthopteren. Daneben können die akzessorischen Drüsen auch in verschiedenen Arten der Thysanura, Odonata, Thysanoptera und Homoptera vorgefunden werden (GILLOTT 1988; KAULENAS 1992). MATSUDA (1976) konnte nachweisen, dass die Drüsen in Vertretern der Ephemeroptera, Dermaptera, Psocoptera, Heteroptera sowie in einigen Orthopteren und zahlreichen Coleopteren sekundär verlorengegangen sind. Gemäß den Ergebnissen von

GILLOTT (1988) treten die weiblichen akzessorischen Drüsen stets gepaart auf und münden seitlich neben der Öffnung des Ductus receptaculi in die Genitalkammer. Bereits BODENSTEIN & SPRAGUE (1959) fanden heraus, dass die Differenzierung der Drüsen über weite Strecken von Juvenilhormon (JH) und Häutungshormonen (Ecdysteroide) gesteuert wird. Erstere Substanz wirkt dabei hemmend auf die Entwicklung, während zweite die Differenzierung fördert.

Bau und Histologie des Epithels der weiblichen akzessorischen Drüsen erweisen sich als relativ einheitlich bei den bisher betrachteten Insekten (GILLOTT 1988). Im Allgemeinen können – von innen nach aussen betrachtet – eine mehrschichtige cuticuläre Intima, ein oder zwei Zelllagen sowie eine wenige μm dicke Basallamina unterschieden werden. In manchen Fällen wird das Epithel noch zusätzlich von einer mehrschichtigen Muskulatur eingehüllt. Bei aus einer einzelnen Zelllage bestehenden Drüsenepithelien produzieren die Drüsenzellen sowohl die apikale Cuticula als auch das eigentliche, für den Reproduktionsvorgang wichtige Drüsensekret. Setzt sich im Gegensatz dazu das Drüsenepithel aus zwei Zelllagen zusammen, so lassen sich stets hochprismatische, sekretorische Zellen mit zentralem Lumen und Endapparat von cuticulogenen Zellen unterscheiden, welche für die Bildung der oftmals sehr dicken cuticulären Intima sowie des vom Endapparat zum Drüsenlumen reichenden Ausführganges verantwortlich sind. Nach dem ersten Schema konstruierte akzessorische Drüsen treten beispielsweise in Weibchen von *Chironomus plumosus* (WENSLER & REMPEL 1962) und *Heliothis zea* (CALLAHAN & CASCIO 1963) auf, wohingegen nach dem zweiten Schema aufgebaute Drüsen zum Beispiel in weiblichen Tieren von *Hyalophora cecropia* (BERRY 1968), *Periplaneta americana* (BRUNET 1952) und *Rhodnius prolixus* (LOCOCO & HUEBNER 1980) beobachtet werden können. Bei *Periplaneta americana* konnten zusätzlich noch signifikante lokale Variationen der Drüsenmorphologie gefunden werden (BRUNET 1952), welche auf die Bildung unterschiedlicher Sekrete innerhalb einer Drüse hindeuten.

Den wenigen bislang veröffentlichten Daten zufolge können dem produzierten Drüsensekret mehrere Funktionen zugeordnet werden. So stellt das Sekret einen basalen Bestandteil der Eikapseln von *Periplaneta americana* dar (BRUNET 1952), wohingegen es bei Insekten mit Ovipositor wahrscheinlich vor allem als Gleitmittel für den erleichterten Transport der Eier durch den Legestachel dient.

Ausführliche Studien der akzessorischen Drüsen in Grillenweibchen blieben in der Vergangenheit auf die australische Feldgrille *Teleogryllus commodus* beschränkt (STURM 1998, 2000, 2002; STURM & POHLHAMMER 2000). In der vorliegenden Arbeit sollen nun die Kenntnisse über diese Strukturen erweitert werden, indem die akzessorischen Drüsen von Weibchen der Mittelmeer-Feldgrille (*Gryllus bimaculatus* DEGEER) sowie der Steppengrille (*Gryllus assimilis* FABRICIUS) genaueren Untersuchungen unterzogen werden. Erhaltene Resultate werden mit den bereits vorhandenen von *T. commodus* verglichen. Neben einer eingehenden Beschreibung der Drüsenform und -größe, sollen vor allem eventuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Drüsen in Bezug auf Morphologie und Ultrastruktur herausgearbeitet werden. Basierend auf der Studie von STURM & POHLHAMMER (2000) soll zuletzt noch die Entwicklung (Änderung der Größe und Zelldimensionen) der jeweiligen Drüsen mit zunehmendem Alter der Weibchen betrachtet werden.

Material und Methoden

In der vorliegenden Studie wurden 2, 4, 6, 8 und 10 Tage alte, weibliche Adulttiere von *G. bimaculatus* und *G. assimilis* verwendet. Die Grillen wurden unter Standardbedingungen (Temperatur: 25 °C, Relative Luftfeuchtigkeit: 60 %, Dauer der Photoperiode: 12 h; MUSIOL et al. 1990) in einer speziellen Klimakammer am Institut für Zoologie der Universität Salzburg gezüchtet. Die Haltung der Larvenstadien erfolgte in mit einer 3 cm hohen Torflage gefüllten Plastikboxen (50 × 30 × 20 cm), in welche als Unterschlupf dienende Eikartons sowie Fest- und Flüssignahrung (Salat, Trockenfutter, befeuchtete Watte pads) gegeben wurden. Nach ihrer Adulthäutung wurden männliche und weibliche Tiere getrennt voneinander in Glasgefäßen mit Volumina von 5 Litern gehalten. Diese wurden ebenfalls mit Futter und Papierknäuel als Versteck für die Tiere versehen. Zur Präparation der akzessorischen Drüsen wurden die betreffenden Weibchen im CO₂-Strom betäubt und anschließend dekapitiert. Die Drüsen selbst wurden nach Transfer der Grillen in eine spezielle Ringer-Lösung für Insekten (MUSIOL et al. 1990), ventraler Öffnung des Abdomens und Beseitigung von überlagerndem Fettgewebe entnommen. Für Studien unter dem Interferenzkontrast-Mikroskop (Reichert Polyvar) wurden die akzessorischen Drüsen zusammen mit Ringer-Lösung auf einen Objektträger übertragen und – je nach Betonung einzelner Strukturen (z.B. Zellkern) – mit verschiedenen Vitalfarbstoffen (Karmin-Essigsäure, usw.) gefärbt (STURM 1998). Für die zur genauen Beschreibung der Zellstruktur notwendigen Transmissionselektronen-mikroskopie wurden aus den Weibchen entnommene Drüsen 3 Stunden lang in einer Mischung aus Paraformaldehyd und Glutaraldehyd (pH: 7,3; KARNOVSKY 1965) vorfixiert und anschließend in 1 %iger OsO₄-Lösung für die Dauer von 2 Stunden nachfixiert. Auswaschung der Fixantien erfolgte unter Verwendung von Cacodylat-Puffer. Zur vollständigen Dehydrierung des Epithelgewebes wurden die Drüsen in eine aufsteigende Ethanol-Serie (70 bis 100 % EtOH) übertragen und einer Kritisch-Punkt-Trocknung unterzogen. Abschließend wurden die Organe in Epon 812 eingebettet. Semidünnschnitte zur Kontrolle der Fixierung wurden mit Hilfe eines Reichert OM-U2 Mikrotoms hergestellt und mit Methylenblau gefärbt. Nach Produktion von Ultradünnschnitten (Dicke ~200 nm) mit demselben Gerät und darauffolgender Kontrastierung der Schnitte mit Bleinitrat und 1%igem Uranylacetat erfolgte deren Untersuchung mit einem Philips EM 300 Transmissionselektronenmikroskop bei einer konstanten Beschleunigungsspannung von 80 kV. Sowohl in der Licht- als auch in der Elektronenmikroskopie wurden Photographien unter Verwendung eines Kodak Technical Pan Filmes oder eines Agfa APX-100 Films erstellt. Zur Studie der Drüsenentwicklung wurden 2, 4, 6, 8 und 10 Tage alte Organe präpariert und unter dem Lichtmikroskop im gestreckten Zustand der Länge und Breite nach vermessen (Verwendung eines speziellen Messokulars). Neben der Gesamtgröße einzelner Drüsen wurde noch die Abhängigkeit der Zellhöhe und -breite vom Alter der Adulttiere bestimmt.

Ergebnisse

Lage und Form der akzessorischen Drüsen

Die paarigen Drüsen der untersuchten Grillenarten sind im Allgemeinen im 6. bzw. 7. abdominalen Segment positioniert und werden meist von mehreren Fettgewebsschichten eingehüllt (Abb. 1). Die Organe münden neben der Öffnung des Ductus receptaculi in die

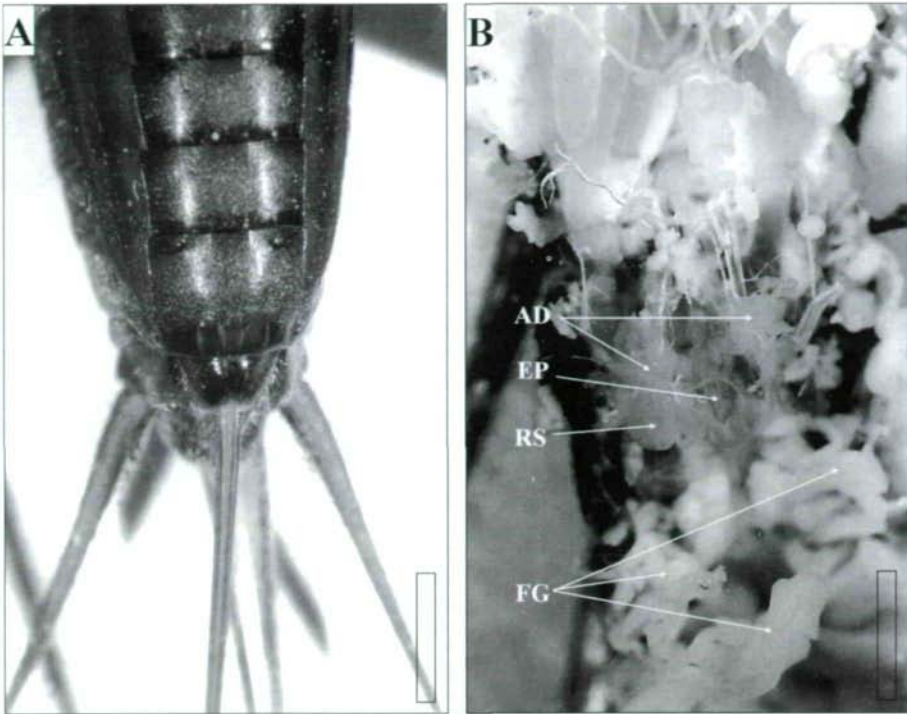


Abb. 1: **A.** Ventrale Ansicht des Abdomens eines Grillenweibchens mit den Sterniten 5 bis 8, den beiden Cerci und dem zentralen Ovipositor (Länge des Balkens entspricht 3 mm). **B.** Eröffneter Hinterleib des Grillenweibchens zur Darstellung der Lage der akzessorischen Drüsen (AD). Die Drüsen münden seitlich neben der Endpapille (EP) des Ductus receptaculi in die Genitalkammer. Weitere Abkürzungen: RS = Receptaculum seminis, FG = Fettgewebe. Balkenlänge = 2 mm.

Genitalkammer. Die Mündungen der akzessorischen Drüsen lassen sich unter dem Mikroskop mit Hilfe eines feinen Pinselhaares sondieren.

Wie in Abb. 2 zu erkennen ist, zeigt die Form der untersuchten Drüsen bisweilen signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Grillenarten. Zum Vergleich wurde in die Abbildung auch die bereits ausführlich dokumentierte Drüse von *T. commodus* miteinbezogen (STURM 2000). Generell lässt sich jede Drüse in drei Hauptregionen untergliedern: 1. einen basalen Abschnitt (R1) mit basalstem Teil des sekretleitenden Apparates und Drüsenmündung, 2. einen mittleren Abschnitt (R2), welcher das mehr oder weniger komplexe System aus Verzweigungen beinhaltet, und 3. einen apikalen Abschnitt (R3) mit den Endköpfchen der Drüse. Während die hauptsächliche Produktion des Drüsensekretes der apikalen Region zugeordnet werden kann, dient die mittlere Region im überwiegenden Maße der Sammlung und Weiterleitung des Sekretes zur Mündung.

In Weibchen der Mittelmeer-Feldgrille *G. bimaculatus* sind die akzessorischen Drüsen einerseits durch überdurchschnittliche Größe (Abb. 2) und andererseits durch hohe Komplexität die Anzahl der Verzweigungen betreffend gekennzeichnet. Länge und

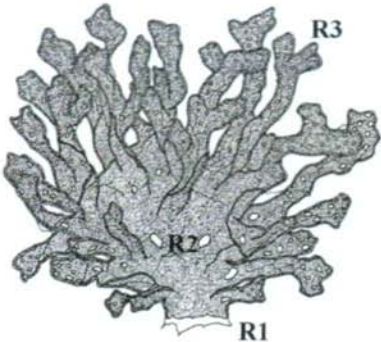
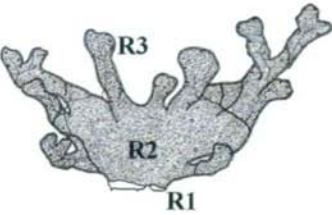
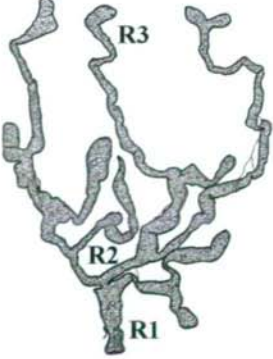
Grillenart	Akzessorische Drüsen	
	Form	Größe
 <i>Gryllus bimaculatus</i> DE GEER		Länge: 8-13 mm, Breite: 7-12 mm
 <i>Gryllus assimilis</i> LINNAEUS		Länge: 3-8 mm, Breite: 7-12 mm
 <i>Teleogryllus commodus</i> WALKER		Länge: 6-14 mm, Breite: 5-10 mm

Abb. 2: Tafel zur Veranschaulichung der Form und Größe der akzessorischen Drüsen in den untersuchten Grillenweibchen. Zum Vergleich werden auch die Drüsen von *T. commodus* gezeigt.

Breite einer einzelnen Drüse sind etwa gleich und reichen je nach Entwicklungsstadium (siehe unten) von 8 bis 13 mm. Die bis zu 30 Verzweigungen unterschiedlicher Länge entspringen einer basalen Region mit großem Lumen und einer mehrere mm messenden Drüsenmündung. Die Enden der Verzweigungen sind entweder erweitert oder teilen sich nochmals in zwei Endköpfchen auf. Die Drüse wird von einem dichten Netz aus Tracheolen eingehüllt, dessen Komplexität im mittleren und apikalen Abschnitt am höchsten ist.

Die akzessorische Drüse im weiblichen Genitaltrakt der Steppengrille *G. assimilis* weicht in ihrer Form signifikant von der entsprechenden Drüse der Mittelmeer-Feldgrille ab (Abb. 2). Dies wird sowohl durch ein Längen/Breiten-Verhältnis kleiner als 1 als auch durch eine wesentlich geringere Anzahl an Verzweigungen (< 10) zum Ausdruck gebracht. Ähnlich wie bei *G. bimaculatus* ist der basale Drüsenabschnitt durch ein weites Lumen und eine große Mündung gekennzeichnet. Tracheolen verlaufen über das gesamte Organ, erreichen jedoch ihre höchste Dichte in der apikalen Drüsenregion.

Bau der akzessorischen Drüsen

Im Gegensatz zu Form und Größe ist die Morphologie der akzessorischen Drüsen weitestgehend einheitlich unter den studierten Grillenarten (Abb. 3). Jede Drüse setzt sich aus einem Epithel und Lumen zusammen, in welches das Drüsensekret ausgeschüttet wird und das in weiterer Folge zur Sammlung und Weiterleitung des Sekretes dient (Abb. 3C–F). Die Größe des Lumens variiert von Abschnitt zu Abschnitt, erreicht jedoch in den zumeist erweiterten Endköpfchen sowie nahe der Mündung ein Maximum. Das Drüsenepithel beinhaltet lediglich einen Zelltyp, welcher für die Bildung sowohl der cuticulären Intima als auch des Sekretes verantwortlich zeichnet. Unter dem Lichtmikroskop läßt sich die meist hochprismatische Form der Epithelzellen mit basal situiertem Zellkern erkennen (Abb. 3D–F). Transluminale wird das Drüsenepithel von einer dünnen Basallamina abgegrenzt. Im basalsten Abschnitt jeder Drüse wird das Epithel zudem von einer Muskelschicht umgeben, welche sich aus zirkulären und longitudinalen Muskelfasern zusammensetzt. Ein sehr spezifisches Merkmal der akzessorischen Drüsen sind die haar- und dornenförmigen Fortsätze der cuticulären Intima (Abb. 3E–F, 4, 5), welche teilweise weit in das Lumen ragen und einheitlich in Flußrichtung des Sekretes orientiert sind.

In *G. bimaculatus* variiert die Höhe des Drüsenepithels je nach Entwicklungsstadium zwischen 30 und 80 µm, wobei der Nukleus einen signifikanten Teil des Zellvolumens beansprucht (Kern/Zell-Volumsverhältnis 0,2–0,3). Die durchschnittliche Länge der oben beschriebenen Cuticulafortsätze nimmt vom basalen (25 µm) zum apikalen (10 µm) Drüsenabschnitt kontinuierlich ab. Ähnliches gilt für die Basallamina, deren Dicke von 2 bis 3 µm auf etwa 0,8 µm reduziert wird. Die nahe der Drüsenmündung situierte Muskelschicht erreicht eine Mächtigkeit von bis zu 18 µm.

Das Epithel der akzessorischen Drüsen von *G. assimilis* erreicht eine Höhe von ca. 60 µm. Analog zu *G. bimaculatus* schwankt das Kern/Zell-Volumsverhältnis zwischen 0,2 und 0,3. Unterschiede ergeben sich hingegen in Bezug auf die Länge der Cuticulafortsätze, welche sich von durchschnittlich 12 µm im basalen Drüsenabschnitt auf 5 µm in

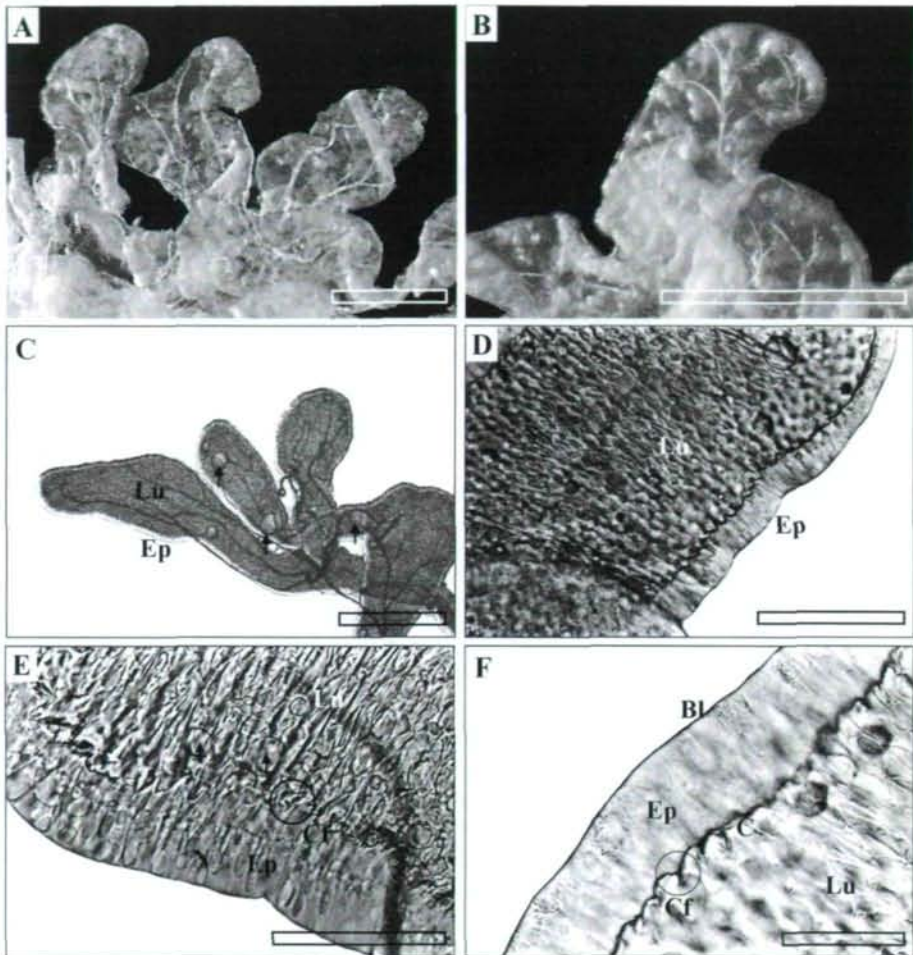


Abb. 3: Lichtmikroskopische Aufnahmen zur allgemeinen Beschreibung der Morphologie der akzessorischen Drüsen in *G. bimaculatus* und *G. assimilis*. **A.** Ausschnitt der akzessorischen Drüse in *G. bimaculatus* mit dichtem Netz von Tracheolen (Balken = 1 mm). **B.** Vergrößerte Darstellung eines Endköpfchens (Balken = 1 mm). **C.** IK-Aufnahme der akzessorischen Drüse von *G. assimilis* mit deutlich erkennbarer Trennung des Organs in Epithel (Ep) und Lumen (Lu). Pfeile deuten auf Sekrettröpfchen hin (Balken = 1 mm). **D.** Detailaufnahme mit Gliederung der Drüse in Epithel und Lumen (Balken = 0,5 mm). **E.** Bei vergrößerte Darstellung des Drüsenepithels werden einzelne Zellkerne (N) und Cuticulafortsätze (Cf) erkennbar (Pfeil: Sekrettröpfchen, Balken = 100 µm). **F.** Maximal vergrößerter Ausschnitt (Bl: Basallamina, C: Cuticula, Balken = 50 µm).

der apikalen Region reduziert. Die Dicke der Basallamina variiert zwischen 0,4 und 2 μm , und die Mächtigkeit der basalen Muskelschicht erreicht bis zu 10 μm .

Ultrastruktur der Drüsenzelle

Analog zur Drüsenmorphologie zeigt auch die Feinstruktur einzelner Epithelzellen keine deutlich erkennbaren Unterschiede zwischen den untersuchten Grillenarten. Wie in den Abb. 4 und 5 dargestellt ist, lässt sich jede Zelle grob in einen basalen Abschnitt mit Zellkern und intrazellulären Zisternen (= lakunäres System nach STURM & POHLHAMMER (2000)) sowie einen apikalen Abschnitt mit Protein- und Lipid-produzierenden Kompartimenten, Mitochondrien und cuticulärer Intima gliedern. Die basale Zellmembran ist stets mit einer Basallamina verbunden, welche die Drüse nach außen hin abgrenzt. Die apikale Zellmembran hingegen ist durch die Ausbildung von bis zu 2 μm langen Mikrovilli in ihrer Oberfläche stark vergrößert. Die zur Abgrenzung des Epithels vom Drüsenlumen dienende cuticuläre Intima variiert in ihrer Dicke zwischen 0,2 und 3 μm und bildet – wie bereits im vorigen Kapitel erwähnt wurde – bis zu 25 μm lange Fortsätze aus. Grundsätzlich kann die Intima in drei Untereinheiten aufgegliedert werden (Endo-, Exo- und Epicuticula), von denen lediglich die Epicuticula konstante Dicke besitzt (ca. 0,2 μm). Die beiden anderen Schichten dagegen können an der Basis großer Fortsätze bisweilen völlig reduziert sein (Abb. 5). Ergebnisse der Transmissions-elektronenmikroskopie belegen, dass die cuticuläre Intima keinerlei Kanäle oder Unterbrechungen besitzt, welche den Transport des Drüsensekretes in das Lumen unterstützen.

Benachbarte Epithelzellen sind für gewöhnlich durch Tight junctions und Punktdesmosomen miteinander verbunden, wodurch interzelluläre Volumina nur in reduzierter Form in Erscheinung treten (Abb. 5). Der Zellkern zeigt im TEM-Bild eine unregelmäßige, jedoch näherungsweise elliptische Form und beinhaltet neben einem zumeist lobulär geformten Kernkörperchen noch unterschiedliche Mengen an Elektronen-dichtem, genetisch inaktivem Heterochromatin. In voll ausdifferenzierten, sekretorisch aktiven Zellen wird der Zellkern von einem System intrazellulärer Zisternen umgeben, welche als Resultat intensiver Einstülpungen der basalen Zellmembran anzusehen sind und eine signifikante Vergrößerung der basalen Zelloberfläche hervorrufen. In einigen dieser Zisternen lassen sich Fragmente ursprünglicher Zellmembran erkennen. Im apikalen Zellabschnitt liegen zahlreiche Zisternen von rauhem und glattem endoplasmatischen Retikulum verstreut, welche gemeinsam mit dem Golgiapparat unter anderem zur Bildung des Sekretes dienen. Die nahegelegenen Mitochondrien sind dem Cristae-Typ zuzuordnen (Abb. 4, 5) und erreichen eine Länge von bis zu 2 μm . Nahe der apikalen Zellmembran ist das Cytoplasma von zahlreichen Vesikeln und Lipidtröpfchen erfüllt. An Stellen vermehrter Sekretabgabe ist der Mikrovilli-Saum durch teilweise größere Unterbrechungen gekennzeichnet.

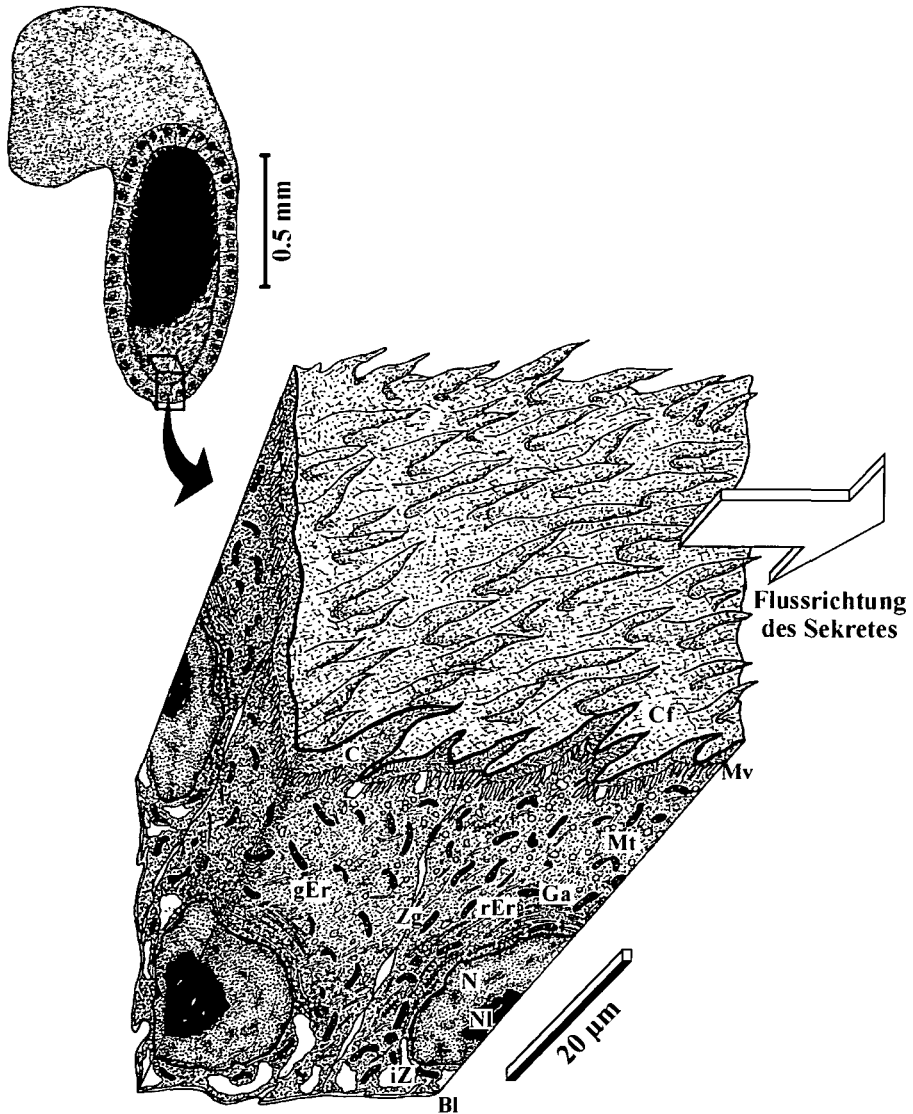


Abb. 4: Feinstruktur der akessorischen Drüsenzelle von *G. bimaculatus* und *G. assimilis*. Im Allgemeinen enthält der basale Zellabschnitt den Zellkern (N) mit zentralem Kernkörperchen (NI) und ein je nach Entwicklungszustand der Drüse mehr oder weniger stark ausgeprägtes System aus intrazellulären Zisternen (iZ). Im apikalen Zellabschnitt treten vor allem Zisternen von glattem ER (gER), rauhem ER (rER), Golgi-Apparat (Ga) sowie zahlreiche Mitochondrien (Mt) auf. Die apikale Zellmembran ist zu einem dichten Saum aus Mikrovilli (Mv) umgebildet. Die Abgrenzung des Epithels gegen das Drüsenlumen erfolgt durch eine mehrschichtige Cuticula (C) mit in Fließrichtung des Sekretes orientierten Fortsätzen (Cf). Weitere Abkürzungen: Zg: Zellgrenze, Bl: Basallamina.

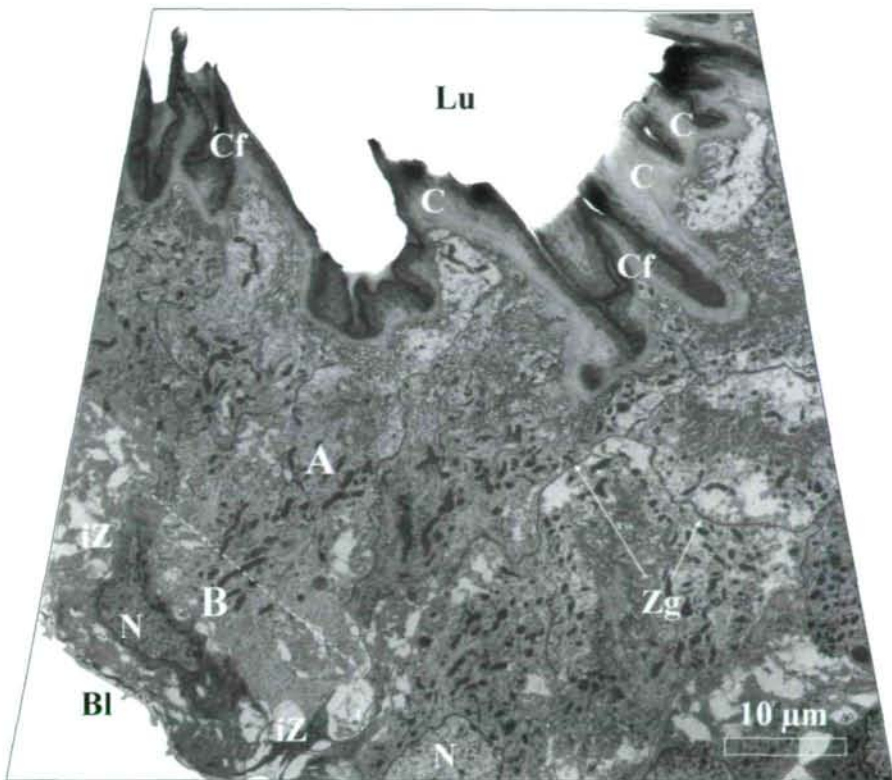


Abb. 5: TEM-Aufnahme des Drüsenepithels von *G. bimaculatus*. Für eine Drüsenzelle ist die Gliederung in apikalen (A) und basalen Abschnitt (B) gezeigt. Der basal situierte Zellkern (N) weist häufig eine unregelmäßige Form mit konkaven Einbuchtungen in luminaler Richtung auf. Die mehrschichtige Basallamina (Bl) variiert in ihrer Dicke von Bruchteilen eines μm bis zu $3\ \mu\text{m}$ und kann lokal tief in die Zelle eingebuchtet sein. Die deutlich erkennbaren intrazellulären Zisternen (iZ) bleiben hauptsächlich auf den basalen Zellabschnitt beschränkt und enthalten mitunter Fragmente ursprünglicher basaler Zellmembran. Besonders auffällig erscheint die apikale, mehrschichtige Cuticula (C) mit ihren haar- oder dornenförmigen Fortsätzen (Cf). An der Basis solcher Fortsätze ist die Cuticula oftmals stark ausgedünnt oder – in extremen Fällen – mit Ausnahme der Epicuticula (schwarze Schicht) vollständig reduziert. Derartige Stellen dienen wahrscheinlich bevorzugt der Passage des Drüsensekretes. Weitere Abkürzung: Zg: Zellgrenze.

Entwicklung der akzessorischen Drüsen

Wie den Abb. 6A und 6B entnommen werden kann, ist die Entwicklung der akzessorischen Drüsen sowohl von *G. bimaculatus* als auch von *G. assimilis* durch eine deutliche Größenzunahme im betrachteten Zeitraum (2 bis 10 Tage nach Adulthäutung) charakterisiert. So erhöht sich die Drüsenlänge von durchschnittlich $8,3\ \text{mm}$ bei 2 Tage alten Vertretern der Mittelmeer-Feldgrille auf $12,3\ \text{mm}$ in 10 Tage alten Tieren. Bei den Steppengrillen ist im gleichen Zeitabschnitt eine Längenzunahme von $3,4$ auf $7,1\ \text{mm}$ zu beobachten. Geringfügige Unterschiede zwischen den Arten sind bezüglich der Drüsen-

breite feststellbar, welche von 6,8 mm bei *G. bimaculatus* beziehungsweise 7,8 mm bei *G. assimilis* auf 11,1 beziehungsweise 11,2 mm ansteigt.

Die Größenzunahme der akzessorischen Drüse steht in engem Zusammenhang mit einer kontinuierlichen Steigerung des Zellvolumens. Belege für das Zellwachstum sind in den Abb. 7A und 7B dargestellt. Bei *G. bimaculatus* steigt die durchschnittliche Zellhöhe von anfänglichen 31,7 μm auf 67,7 μm in 12 Tage alten Tieren. Bei *G. assimilis* ist eine entsprechende Zunahme der Zellhöhe von 28,6 μm auf 53,2 μm zu beobachten. Die Entwicklung der Zellbreite ist bei beiden Grillenarten nahezu identisch und zeigt ein Wachstum von ca. 25 μm auf ca. 35 μm (Abb. 7B).

Diskussion

Den Ergebnissen der vorliegenden Studie kann entnommen werden, dass die akzessorischen Drüsen der Weibchen von *G. bimaculatus* und *G. assimilis* deutliche Unterschiede bezüglich der Größe und Form zeigen, wohingegen ihre Morphologie sowie die Feinstruktur einzelner Epithelzellen als nahezu identisch betrachtet werden kann. Dasselbe Resultat erhält man auch beim Vergleich der hier beschriebenen Drüsen mit jenen von *T. commodus*, welche bereits detailliert dokumentiert worden sind (STURM 1998, 2000). Aufgrund mikroskopischer Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass das Epithel der betrachteten Drüsen lediglich aus einem einzelnen Zelltyp aufgebaut ist, welcher sowohl das Drüsensekret als auch die apikale cuticuläre Intima absondert. Demzufolge können die akzessorischen Drüsen eindeutig dem ersten von GILLOTT (1988) diskutierten Bautypus mit einfacher Zellschicht zugeordnet werden (siehe Einleitung). STURM & POHLHAMMER (2000) unterteilten die akzessorische Drüse von *T. commodus* in drei Hauptabschnitte (R1, R2 und R3), welche morphologische Unterschiede (z.B. Länge der Cuticula-Fortsätze) oder spezifische Besonderheiten (Ausbildung einer Muskellage) aufweisen. Dieses Gliederungskonzept konnte ohne Einschränkungen auch auf die hier dokumentierten Drüsen angewendet werden. Dabei wurde die apikale Drüsenregion (R3) als hauptsächliche Produktionseinheit des Drüsensekretes identifiziert, während mittlere und basale Regionen (R1, R2) weitestgehend der Sammlung und Weiterleitung des Sekretes dienen. Eine analoge Dreigliederung wurde für den Ductus receptaculi in *T. commodus* definiert (ESSLER et al. 1992). Hier wird eine Unterscheidung der einzelnen Abschnitte einerseits durch das exklusive Auftreten von Drüsenzellen in der mittleren Region und andererseits durch den variablen Durchmesser des Lumens ermöglicht.

Trotz ihrer verhältnismäßig einfachen Architektur sind die untersuchten Drüsen durch einige spezifische Besonderheiten gekennzeichnet. Dazu zählen vor allem die haar- oder dornförmigen Fortsätze der cuticulären Intima, deren Funktion bislang noch nicht genau bekannt ist. So wird einerseits angenommen, dass die Fortsätze aufgrund ihrer einheitlichen Orientierung den Sekretfluss in Richtung zur Drüsenmündung unterstützen. Als alternative Funktion der Fortsätze käme aber auch die Aufrechterhaltung eines minimalen luminalen Volumens sowie die Stabilisation der Drüsenform in Betracht. Ähnliche Strukturen sind bisher nur für das Receptaculum seminis in *T. commodus* dokumentiert worden (ESSLER et al. 1992), wo sie wahrscheinlich die aktive Bewegung der Spermatozoen entlang der Receptaculum-Wand und nachfolgende Einleitung in den Ductus receptaculi unterstützen. Die den basalsten Abschnitt der akzessorischen Drüsen

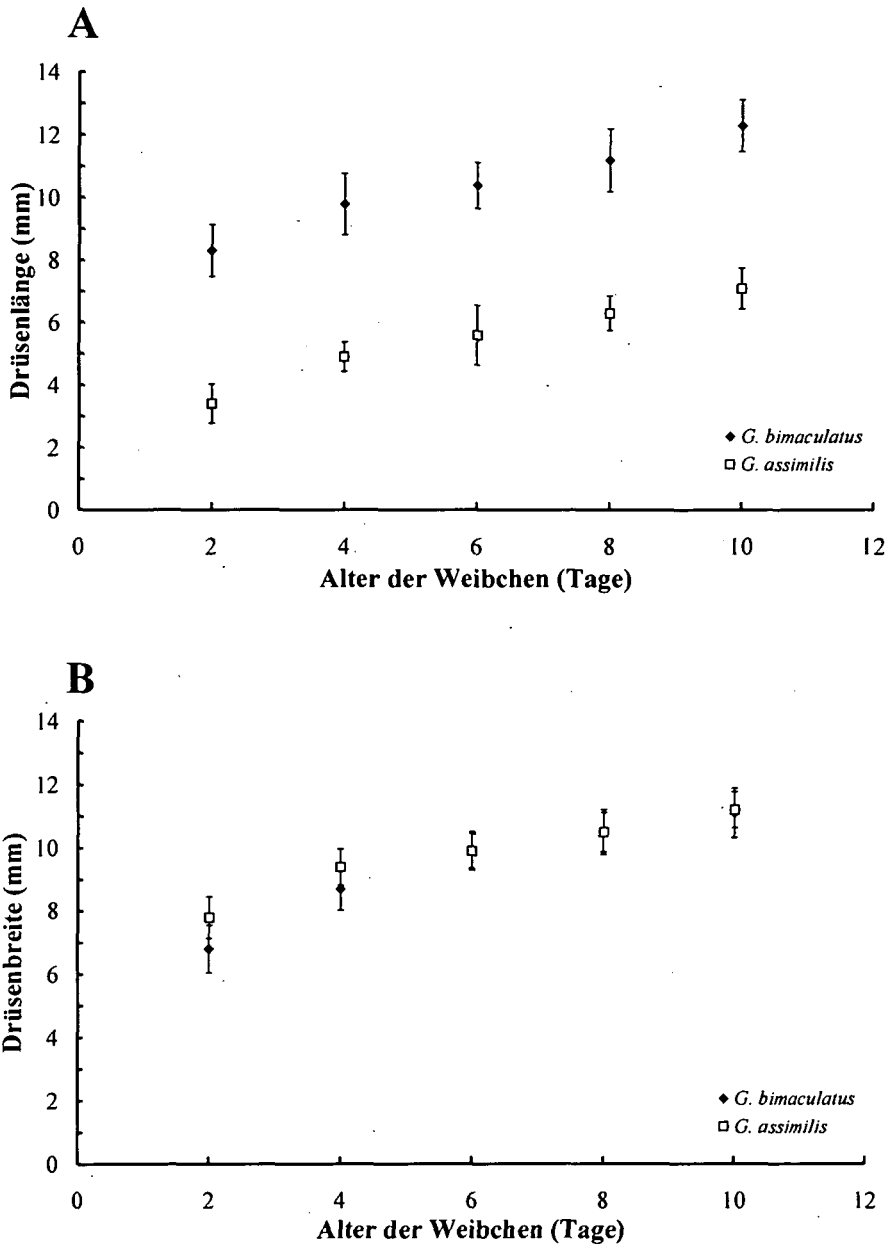


Fig. 6: Entwicklung der akessorischen Drüsen von *G. bimaculatus* und *G. assimilis* im Zeitraum von 2 bis 10 Tagen nach der Adulthäutung der Weibchen. A. Zunahme der Drüsenlänge. B. Zunahme der Drüsenbreite. Die Drüsen wurden im gestreckten Zustand nach weitgehender Entfernung des Tracheolensystems vermessen (Fehlerbalken: $\pm 1\sigma$).

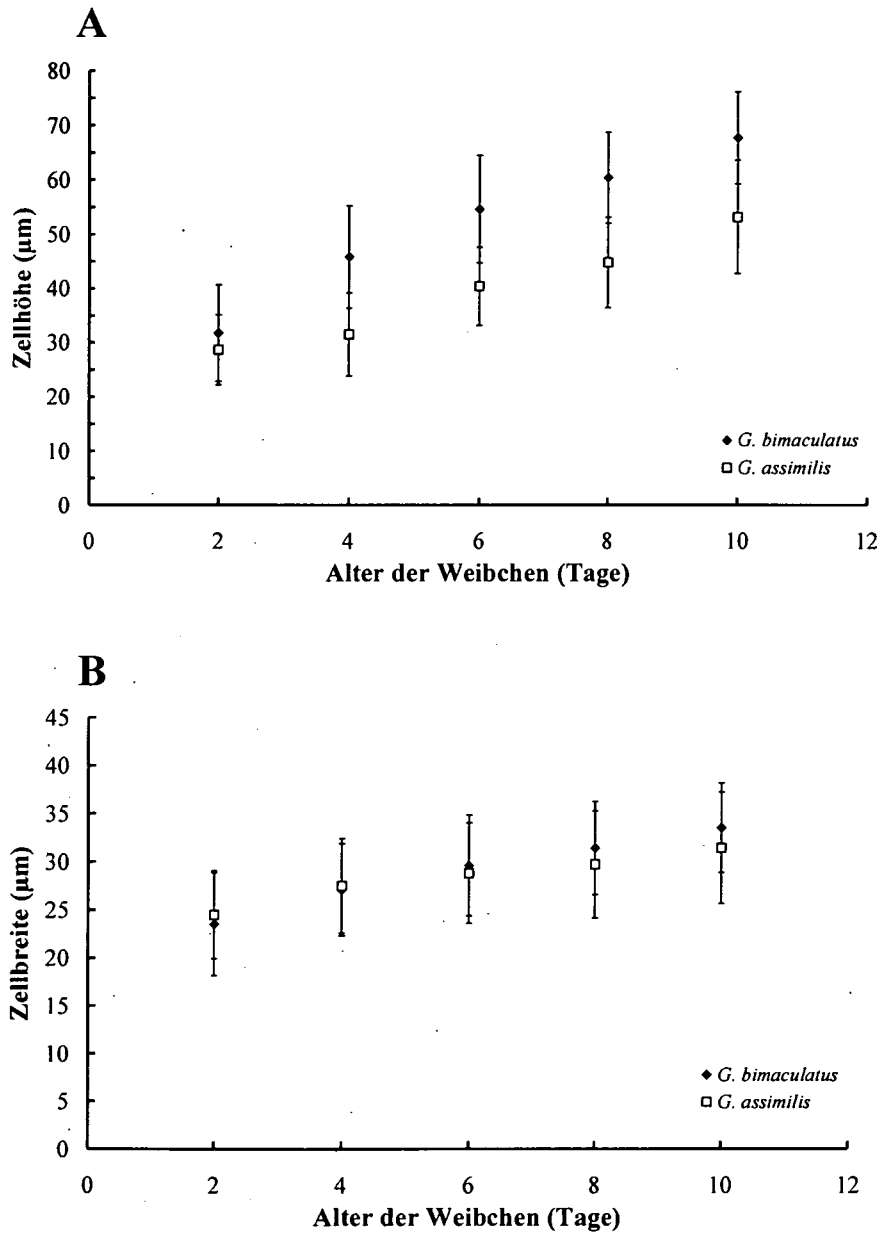


Fig. 7: Entwicklung der akzessorischen Drüsen von *G. bimaculatus* und *G. assimilis* im Zeitraum von 2 bis 10 Tagen nach der Adulthäutung der Weibchen. A. Zunahme der Höhe einzelner Drüsenzellen. B. Zunahme der Zellbreite (Fehlerbalken: $\pm 1\sigma$).

umgebende Muskelschicht könnte zum Verschließen der Drüse dienen und so eine Beschränkung des Sekretausflusses auf die Eiablage-Periode verursachen (STURM & POHLHAMMER 2000). Peristaltische Bewegung der Muskulatur könnte zudem das Sekret in höheren Mengen aus der Drüse evakuieren.

Die Feinstruktur einzelner Drüsenzellen ist ebenso einheitlich unter den betrachteten Grillenarten wie die Drüsenmorphologie. Im Allgemeinen lässt sich bei jeder Epithelzelle eine Gliederung in zwei Abschnitte vornehmen: 1. einen basalen Abschnitt mit Zellkern und intrazellulären Zisternen und 2. eine apikale Region mit protein-/lipidproduzierenden Kompartimenten, Mitochondrien vom Cristae-Typus und mehrschichtiger cuticulärer Intima. Das Zisternensystem nimmt während der Drüsendifferenzierung kontinuierlich an Komplexität zu und erreicht seinen Endzustand zu Beginn der sekretorischen Aktivität der akzessorischen Drüse. Die durch die Zisternen stark vergrößerte basale Zelloberfläche erlaubt möglicherweise eine erhöhte Aufnahme von Sekret- und Protein-Vorläufersubstanzen aus der Hämolymphe zu Zeiten intensiver Eiablage des Grillenweibchens. Ähnliche Einstülpungen der basalen Zellmembran sind unter anderem für die akzessorischen Drüsen von *Hyalophora cecropia* (BERRY 1968) dokumentiert worden. Zur Abgabe des Drüsensekretes ins Lumens ist eine Passage der cuticulären Intima unumgänglich. Wie aus stark vergrößerten TEM-Bildern ersichtlich ist, weist die Intima weder kanalartige Strukturen noch irgendwelche Unterbrechungen auf, welche eine Ausleitung des Sekretes unterstützen. Derartige Strukturen wurden bislang vor allem für Drüsenzellen beschrieben, welche hydrophile Substanzen produzieren (TREHERNE 1957). Dazu zählen beispielsweise die sekretorisch aktiven Zellen des Ductus receptaculi in *T. commodus* (ESSLER et al. 1992) sowie entsprechende Zellen in den Wachsdrüsen von *Anomoneura mori* (WAKU 1978). Das Fehlen von Kanälen in der Cuticula der untersuchten akzessorischen Drüsen läßt vermuten, dass die nachweislich lipophile Substanz (STURM 1998) in der Lage ist, die Barriere durch einfache Diffusion zu überwinden. Dies wird bevorzugt an jenen Stellen ermöglicht, wo die Intima auf die Epicuticula reduziert worden ist (z.B. an der Basis von großen Cuticula-Fortsätzen). Diffusiver Sekrettransport durch chitinöse Schichten ist bereits zuvor für die Cornuadrüse in Männchen von *Apis mellifera* (KOENIGER et al. 1996) und die Pheromondrüsen in Seidenspinne-Weibchen (SCHNEIDER 1994) berichtet worden. Die Diffusionstheorie wird zudem durch die Experimente von EIDMANN (1922) unterstützt, welcher die Permeabilität von Chitinstrukturen austestete.

Die Entwicklung der akzessorischen Drüsen in *G. bimaculatus* und *G. assimilis* ist durch eine deutliche Größenzunahme charakterisiert, welche durch ein kontinuierliches Anwachsen sowohl der Drüsenlänge als auch der Breite erreicht wird. Entwicklungsbedingte Veränderungen der Drüsengröße sind dabei auf das Wachstum einzelner Zellen zurückzuführen, während mitotische Zellvermehrung als Wachstumsfaktor nach detaillierten TEM-Studien ausgeschlossen werden kann. Wie den Graphen aus Abb. 7 zu entnehmen ist, werden die Zelldimensionen im Laufe der Differenzierung permanent vergrößert, was letztendlich eine mehrfache Erhöhung des Zellvolumens ergibt. Ähnliche Entwicklungen sind für verschiedenste männliche akzessorische Drüsen dokumentiert worden (siehe Überblick in HAPP 1984).

In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass die akzessorischen Drüsen in Weibchen verschiedener Grillenarten einheitlich strukturiert sind. Ihre Rolle während der Reproduktion ist jedoch bislang noch nicht vollständig aufgeklärt, weshalb weitere Studien auf diesem Gebiet sinnvoll erscheinen.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden die Morphologie und Entwicklung der weiblichen akzessorischen Drüsen von *G. bimaculatus* und *G. assimilis* im Detail untersucht und mit den entsprechenden Organen von *T. commodus* verglichen. Im Allgemeinen sind die paarigen Drüsen im 6. und 7. abdominalen Segment lokalisiert und münden seitlich der Endpapille des Ductus receptaculi in die Genitalkammer. Jede Drüse kann in drei Hauptregionen unterteilt werden: 1. einen basalen Abschnitt (R1) mit der Mündung und dem basalen sekretleitenden System, 2. einen mittleren Abschnitt (R2) mit dem komplexen System der Verzweigungen und 3. einen apikalen Abschnitt (R3) mit den Endköpfchen der Drüse. Während Größe und Form der akzessorischen Drüsen unter den betrachteten Grillenarten deutlich variieren, sind sowohl die Drüsenmorphologie als auch die Feinstruktur einzelner Epithelzellen durch weitgehende Übereinstimmung gekennzeichnet. Das Epithel setzt sich aus einer Basallamina, einer einzelnen Zellschicht und einer cuticulären Intima zusammen. Jede Drüsenzelle besteht aus einem basalen Abschnitt mit elliptischem Zellkern und intrazellulären Zisternen sowie einem apikalen Abschnitt mit lipid- und proteinbildenden Kompartimenten, Mitochondrien vom Cristae-Typus und Mikrovilli-Saum. Wie bei *T. commodus* erfolgt die Ausschüttung des lipophilen Sekretes ins Drüsenlumen durch einfache Diffusion der cuticulären Intima. Die Entwicklung der akzessorischen Drüsen ist durch eine kontinuierliche Größenzunahme charakterisiert. Diese ist ausschließlich auf das Wachstum der Zelldimensionen, nicht jedoch auf mitotische Zellteilungen zurückzuführen.

Literatur

- BERRY S.J. (1968): The fine structure of the colleterial glands of *Hyalophora cecropia* (Lepidoptera). — J. Morphol. **125**: 259-280.
- BODENSTEIN D. & I.B. SPRAGUE (1959): The developmental capacities of the accessory sex glands in *Periplaneta americana*. — J. Exp. Zool. **142**: 177-202.
- BRUNET P.C.J. (1952): The formation of the ootheca by *Periplaneta americana* (L.). The structure and function of the left colleterial gland. — Quart. J. Microsc. Sci. **93**: 47-69.
- CALLAHAN P.S. & T. CASCIO (1963): Histology of the reproductive tract and transmission of sperm in the corn earworm, *Heliothis zea*. — Ann. Entomol. Soc. Am. **56**: 535-556.
- EIDMANN H. (1922): Die Durchlässigkeit des Chitins bei osmotischen Vorgängen. — Biol. Ztbl. **42**: 429-435.
- ESSLER H., HERZOG E.M., MUSIOL I.M. & K. POHLHAMMER (1992): Morphology of the receptacular complex in the cricket *Teleogryllus commodus* (Saltatoria: Ensifera: Gryllidae). — Entomol. Gener. **17**: 219-232.
- GILLOTT C. (1988): Accessory sex glands in arthropoda - insecta, pp. 319-473. — In: ADIYODI K.G. & R.G. ADIYODI (Eds.) Reproductive biology of invertebrates III. Accessory sex glands, New York (John Wiley & Sons).
- HAPP G.M. (1984): Structure and development of male accessory glands in insects, pp. 365-396 — In: KING R.C. & H. AKAI (Eds.) Insect Ultrastructure, vol. II, New York (Plenum Press).
- KARNOVSKY M.J. (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. — J. Cell Biol. **27**: 137A-138A.
- KAULENAS M.S. (1992): Insect accessory reproductive structures. Function, structure, and development. — Springer, Berlin, 226 pp.
- KOENIGER G., HAENEL H., WISSEL M. & W. HERTH (1996): Cornual gland of the honeybee drone (*Apis mellifera* L.): Structure and secretion. — Apidologie **27**: 145-156.
- LOCOCO D. & E. HUEBNER (1980): The ultrastructure of the female accessory gland, the cement gland, in the insect *Rhodnius prolixus*. — Tissue and Cell **12**: 557-580.

- MATSUDA R. (1976): Morphology and evolution of the insect abdomen. — Pergamon Press, Oxford, 234 pp.
- MUSIOL I.M., JIRIKOWSKI G.F. & K. POHLHAMMER (1990): Immunohistochemical characterization of a widely spread Arg-vasopressin-like neuroendocrine system in the cricket *Teleogryllus commodus* Walker (Orthoptera, Insecta). — Acta Histochemica Supplement 40: 137-142.
- SCHNEIDER D. (1994): Hundert Jahre Pheromonforschung. — Naturwissenschaftliche Rundschau 47: 337-349.
- STURM R. (1998): Die Entwicklung der akzessorischen Drüsen im weiblichen Genitaltrakt von *Teleogryllus commodus* WALKER (1869) (Insecta: Orthoptera). — University of Salzburg, Institute of Zoology, 60 pp.
- STURM R. (2000): Die weiblichen akzessorischen Drüsen der australischen Feldgrille *Teleogryllus commodus* WALKER (Orthoptera, Gryllidae): Morphologie, Funktion und Entwicklung. — Linzer biol. Beitr. 32/1: 213-233.
- STURM R. (2002): Development of the accessory glands in the genital tract of female *Teleogryllus commodus* WALKER (Insecta, Orthoptera). — Arthropod Struc. Dev. 31: 231-241.
- STURM R. & K. POHLHAMMER (2000): Morphology and development of the female accessory sex glands in the cricket *Teleogryllus commodus* (Saltatoria: Ensifera: Gryllidae). — Inv. Reprod. Dev. 38: 13-21.
- TREHERNE J.E. (1957): The diffusion of non-electrolytes through the isolated cuticle of *Schistocerca gregaria*. — J. Insect Physiol. 1: 178-186.
- WAKU Y. (1978): Fine structure and metamorphosis of the wax gland cells in a psyllid insect, *Anomoneura mori* Schwartz (Homioptera). — J. Morphol. 158: 243-273.
- WENSLER R.J.D. & J.G. REMPEL (1962): The morphology of the male and female reproductive system of the midge, *Chironomus plumosus* L. — Can. J. Zool. 40: 199-229.

Anschrift des Verfassers: MMMMag. Dr. Robert STURM
Brunnleitenweg 41
A-5061 Elsbethen, Austria
E-mail: Robert.Sturm@sbg.ac.at